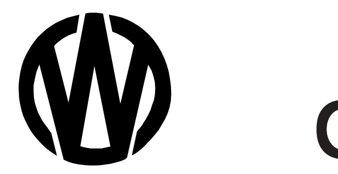


C

TG Color

GPO/PAP AA

Método enzimático para la determinación de triglicéridos en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

Los triglicéridos son lípidos absorbidos en la dieta y también producidos en forma endógena a partir de los carbohidratos. Su medición es importante en el diagnóstico y manejo de las hiperlipidemias. Estas enfermedades pueden tener origen genético o ser secundarias a otras tales como nefrosis, diabetes mellitus y disfunciones endócrinas. El aumento de triglicéridos se ha identificado como un factor de riesgo en enfermedades ateroscleróticas.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El esquema de reacción es el siguiente:

triglicéridos $\xrightarrow{\text{lipoprotein lipasa}}$ glicerol + ácidos grasos

glicerol + ATP $\xrightarrow{\text{glicerol kinasa}}$ glicerol-1-P + ADP

glicerol-1-fosfato + O_2 $\xrightarrow{\text{GPO}}$ H_2O_2 + dihidroxiacetonafosfato

2 H_2O_2 + 4-AF + clorofenol $\xrightarrow{\text{POD}}$ quinonimina roja

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo lipoprotein lipasa, glicerol kinasa (GK), glicerol fosfato oxidasa (GPO), peroxidasa (POD), adenosina trifosfato (ATP) y 4-aminofenazona (4-AF).
B. Reactivo B: solución de buffer Good conteniendo clorofenol, pH 7,5.
S. Standard: solución de glicerol 2,26 mmol/l (equivale a 2 g/l de trioleína).

Concentraciones finales

Good .... 50 mmol/l; pH 7,5
clorofenol .... 2 mmol/l
lipoprotein lipasa .... ≥ 800 U/l
GK .... ≥ 500 U/l
GPO .... ≥ 1500 U/l
POD .... ≥ 900 U/l
ATP .... 2 mmol/l
4-AF .... 0,4 mmol/l

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab. cuando se emplea la técnica automática.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Standard: listo para usar.
Reactivo de Trabajo:
- 5/10 x 20 ml: agregar 20 ml de Reactivo B a un vial de Reactivo A. Mezclar hasta disolución completa. Homogeneizar y fechar.
- 4 x 50 ml: reconstituir el contenido de un vial de Reactivo A con una porción de Reactivo B y luego transferir al frasco de Reactivo B enjuagando varias veces. Homogeneizar y fechar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.
Reactivo de Trabajo: es estable 30 días en refrigerador (2-10°C).

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El Reactivo de Trabajo puede presentar una coloración rosada que no afecta su funcionamiento.
Lecturas del Blanco superiores a 0,160 D.O. o lecturas del Standard anormalmente bajas, son indicios de deterioro del Reactivo. En tal caso, desechar.

MUESTRA

Suero o plasma
a) Recolección: previo ayuno de 12 a 14 horas, obtener suero o plasma. Separar de los glóbulos rojos dentro de las 2 horas de extracción.
b) Aditivos: en caso de emplear plasma, se recomienda el uso de Anticoagulante W o heparina para su obtención.
c) Sustancias interferentes conocidas: los sueros con hemólisis intensa o marcadamente ictéricos producen resultados erróneos, por lo que no deben ser usados.
Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: los triglicéridos en suero son estables 3 días en refrigerador (2-10°C). No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro o 490-530 nm en fotocolorímetro con filtro verde.
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 10 ul
- Volumen de reactivo: 1 ml
- Volumen final de reacción: 1,01 ml

PROCEDIMIENTO

Homogeneizar la muestra antes de usar, especialmente frente a sueros lechosos.

En tres tubos o cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Muestra	-	-	10 ul
Standard	-	10 ul	-
Reactivo de Trabajo	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar, incubar 5 minutos a 37°C o 20 minutos a temperatura ambiente (18-25°C). Enfriar y leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) llevando el aparato a cero con agua destilada.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 60 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Corregir las lecturas con el Blanco de reactivos y usar las lecturas corregidas para los cálculos.

$$TG\ g/l = D \times factor \qquad factor = \frac{2\ g/l}{S}$$

CONVERSION DE UNIDADES

Triglicéridos (g/l) = 0,01 x Triglicéridos (mg/dl)
Triglicéridos (mg/dl) x 0,0113 = Triglicéridos (mmol/l)

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de triglicéridos, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de Triglicéridos:

Deseable: < 1,50 g/l
Moderadamente elevado a elevado: 1,50 - 1,99 g/l
Elevado: 2,00 - 4,99 g/l
Muy elevado: ≥ 5,00 g/l

No obstante, se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos o valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
Los reductores disminuyen la respuesta de color, mientras que los oxidantes colorean el Reactivo aumentando los Blancos.
Las contaminaciones con glicerol producen resultados falsamente aumentados.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de las mismas muestras en 10 días diferentes, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
1,14 g/l	± 0,021 g/l	1,82 %
7,41 g/l	± 0,074 g/l	2,11 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de trioleína a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 99,2 y 100,7% para todo el rango de linealidad del método.
c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 10 g/l de triglicéridos. Para valores superiores, repetir la determinación con muestra diluida 1:2 con solución fisiológica. Multiplicar el resultado obtenido por la dilución efectuada.
d) Límite de detección: depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetros, el cambio mínimo de concentración detectable en las condiciones de reacción descriptas, para una variación de absorbancia de 0,001 D.O. será aproximadamente de 0,008 g/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del Analizador en uso.
Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab., de acuerdo a los requerimientos del analizador.

PRESENTACION

- 5 x 20 ml (Cód. 1780107).
- 10 x 20 ml (Cód. 1780101).
- 4 x 50 ml (Cód. 1780105).

BIBLIOGRAFIA

- Fossati, P - Clin. Chem. 28/10:2077 (1982).
- McGowan, M.W.; et al - Clin. Chem. 29/3: 538 (1983).
- Tietz, N.W. - Fundamentals of Clin. Chem. - W.B., Saunders Co. - Philadelphia, Pa. (1970), pág. 329.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

C	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"
P	Representante autorizado en la Comunidad Europea
V	Uso diagnóstico "in vitro"
X	Contenido suficiente para <n> ensayos
H	Fecha de caducidad
l	Límite de temperatura (conservar a)
	No congelar
F	Riesgo biológico
→	Volumen después de la reconstitución
Cont.	Contenido
g	Número de lote
M	Elaborado por:
Xn	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
Xi	Irritante
i	Consultar instrucciones de uso
Calibr.	Calibrador
b	Control
b	Control Positivo
c	Control Negativo
h	Número de catálogo

M Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com.ar
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. Nº: 2085/97



UR120607